

慢性血栓塞栓性肺高血圧症における新規病因蛋白 Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitorの 基礎的・臨床的解析

著者	佐藤 大樹
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3633号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123314

氏 名	さとう たいじゅ 佐藤 大樹
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	慢性血栓塞栓性肺高血圧症における新規病因蛋白 Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitorの基礎的・臨床的 解析
論文審査委員	主査 教授 下川 宏明 教授 堀内 久徳 教授 宮田 敏男

論文内容要旨

背景：慢性血栓塞栓性肺高血圧症 Chronic thromboembolic pulmonary hypertension

(CTEPH)は致死的な疾患であるが、その病因は解明されていない。CTEPH患者においてTAFIのSingle nucleotide polymorphisms (SNPs)が報告されている。

研究目的：CTEPHの病態におけるThrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)の意義を検討すること。

方法と結果：本研究では、健常者、肺高血圧患者と比較し、CTEPH患者の血漿中において活性型TAFI (activated TAFI, TAFIa) が高値であることを確認した。また免疫組織染色により、CTEPH患者の肺動脈内血栓においてTAFIの発現を確認し、その血栓に付着する内皮細胞には、TAFIの活性化に寄与するThrombomodulin (TM)の発現がみられた。低酸素状態において血漿中TAFIが活性化するという既報を踏まえ、遺伝子改変マウスに対して慢性低酸素刺激を行い、肺高血圧症、血栓形成における活性型TAFIの役割を検討した。野生型マウスに比較し、TAFI全身欠損マウス(*Cpb2*^{-/-})においては、低酸素刺激により起こる右室収縮期圧 (right ventricular systolic pressure: RVSP)、右室肥大 (right ventricular hypertrophy: RVH)、末梢肺動脈の壁肥厚 (remodeling) の上昇が抑制された。一方、低酸素刺激後TAFI全身過剰発現マウス (TAFI-Tg) においては、RVSP、RVH、末梢肺動脈のremodelingの亢進がみられた。プラスミドを用いて作成した肝臓特異的TAFI過剰発現マウスにおいてもTAFI過剰発現マウスと同様の結果が得られ

た。また低酸素刺激後マウスに対して、Dextranを静注し肺動脈周囲の漏出量を蛍光免疫染色にて評価したところ、TAFI過剰発現マウスにおいては、有意に漏出量の亢進、つまり肺動脈透過性の亢進がみられた。これと一致するように、TAFI過剰発現マウスの肺ホモジェネートにおいては炎症性サイトカインの上昇がみられ、慢性低酸素刺激下における有意な生存率の低下がみられた。これらの結果よりTAFIによる肺動脈透過性の亢進が肺高血圧症に寄与していると考えられた。また、TAFI過剰発現マウスにおいては、低酸素刺激後に有意な肺動脈内血栓形成がみられ、造影CTでは肺動脈の途絶像がみられた。骨髓移植実験により、骨髓中ではなく血漿中の活性型TAFIが肺動脈局所に血栓形成を引き起こし、肺高血圧症を亢進させることがわかった。また細胞実験において、TAFIはTMにより活性化し、肺動脈内皮細胞におけるVE-cadherinの発現を減弱させ、肺動脈内皮細胞の透過性亢進に寄与することがわかった。更に、TAFIは、肺動脈平滑筋細胞において有意に細胞増殖を亢進した。最後に、PPAR α agonistであるWY14643、Fenofibrateのマウスへの混餌投与は、血漿中TAFIを減少させ、TAFI過剰発現マウスの慢性低酸素刺激下でみられた生存率の低下、肺高血圧、肺動脈内血栓形成の亢進を改善させた。

結論：CTEPH患者において血漿中活性型TAFIの上昇がみられた。また、マウスにおいて血漿中活性型TAFIは肺動脈内血栓形成を促進し、肺高血圧を亢進させた。このことからTAFIはCTEPHにおける新規のバイオマーカー、また治療標的となりうると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 慢性血栓塞栓性肺高血圧症における新規病因蛋白Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitorの基礎的・臨床的解析

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 循環器内科学分野

学籍番号 B3MD5064 氏名 佐藤 大樹

慢性血栓塞栓性肺高血圧症Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH)は肺動脈内の不溶性器質化血栓と肺高血圧を特徴とする致死的な疾患であるが、その病因は未解明である。CTEPH患者においてThrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)の一塩基多型が報告されている。TAFI は肝臓で産生され、血漿中に存在し全身を循環する蛋白質であり、フィブリン塊上で組織プラスミノゲンやプラスミンが結合するリジン残基を切除することで、その活性化を阻害し、線溶系を負に制御する。

本研究では、CTEPH患者において血漿中の活性型TAFIが高値であることを確認した。また肺病理組織の免疫染色により、CTEPH患者の肺動脈内血栓においてTAFIとその活性化因子であるトロンボモジュリンの発現が強くみられることを明らかにした。

生体内における活性型TAFIの役割を評価するため、低酸素状態において血漿中のTAFIが活性化するという既報をもとに、遺伝子改変マウスに対して慢性低酸素誘発性肺高血圧モデルを使用した。全身性TAFI欠損マウス、TAFI過剰発現マウス、肝臓特異的TAFI過剰発現マウスの低酸素刺激実験、またTAFI欠損骨髓細胞を用いた骨髓移植実験により、肝臓で産生され血漿中に分泌されるTAFIが肺動脈内血栓形成や炎症細胞浸潤に寄与し、肺高血圧を促進することを証明した。また細胞実験において、ヒト血漿由来TAFI蛋白による刺激は肺動脈内皮細胞におけるVE-cadherinの発現を減弱させ、細胞透過性の亢進に寄与することを示した。更に、TAFIは肺動脈平滑筋細胞において有意に細胞増殖を亢進させることを明らかにした。最後に、PPAR α agonistsのマウスへの混餌投与は、血漿中TAFIを減少させ、低酸素誘発性の肺動脈内血栓形成と肺高血圧を改善させることを示した。

本研究は CTEPH 患者にみられる器質化血栓と肺高血圧という未だ解明されていない病態に、活性型TAFI が重要な関与をしていることを明らかにした初めての論文である。今後の CTEPH の病因解明や新たな治療法に繋がる重要な知見であり学位に十分に値すると考えられる。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。